

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860603

研究課題名(和文) ヒト心臓内幹細胞から心筋細胞への分化制御機構の解明

研究課題名(英文) Clarification of the mechanism how human cardiac progenitor cells differentiate into cardiomyocytes.

研究代表者

吉田 賢司 (YOSHIDA, Masashi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：70532761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：心筋分化前後のヒト心臓内幹細胞に対してDNA microarrayで発現遺伝子解析を行った結果、ヒト心臓内幹細胞をラット新生児心筋細胞と共培養をすることで、ヒト内皮細胞にかかわる遺伝子群の発現が亢進していた。ヒト心筋細胞にかかわる遺伝子群に関してはヒト用DNA microarrayのチップにラットの遺伝子が反応したため、結果の解析には注意が必要と考えた。逆にヒト血管内皮細胞とヒト心臓内幹細胞を共培養すると、ヒト心臓内幹細胞が一過性に心筋様細胞に分化することがわかった。今後はヒト心筋細胞にかかわる遺伝子群の注意深い解析とともに、ヒト心臓内幹細胞が内皮細胞に分化する機序を探索する予定である。

研究成果の概要(英文)：We compared expressed genes in human cardiac progenitor cells before and after cardiac differentiation by DNA microarray. We differentiated human cardiac progenitor cells into cardiomyocytes by co-culture those cells with neonatal rat ventricular myocytes. This comparison revealed that a set of genes which promote cells into endothelial cells was expressed in human cardiac progenitor cells. But a set of genes which are known to promote embryonic stem cells into cardiomyocytes was not able to be compared because DNA microarray chips reacted with rat genes. Careful interpretation may be need to understand the mechanism how human cardiac progenitor cells differentiate into cardiomyocytes with these results. On the other hand, we found that human progenitor cells can be transdifferentiate into cardiomyocytes by co-culture those cells with human endothelial cells

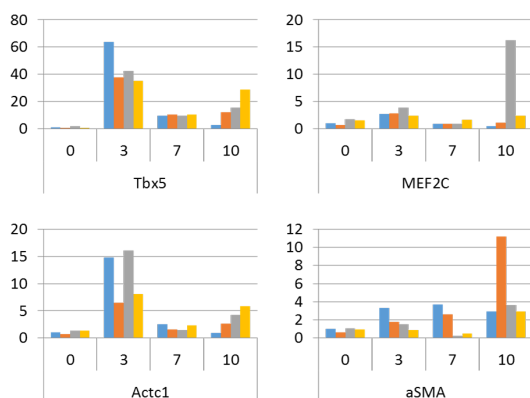
研究分野：再生医療 心不全

キーワード：心臓内幹細胞 内皮細胞 DNAマイクロアレイ



その結果、ある遺伝子群が心筋分化刺激前後で変化していた。しかし注目していたすでに知られている心筋分化促進遺伝子は DNA microarray が rat 心筋由来遺伝子と反応したため、はっきりとした差は見いだせなかった。この点は現在注意深く解析中である。また明瞭な変化のある遺伝子群には、PECAM など血管内皮細胞の遺伝子群が増加していた。これは、心筋細胞しかない状態では人心臓内幹細胞が血管内皮細胞へ分化するとこと意味し、現在そのメカニズムを解析中である。この結果は、ヒト心臓内幹細胞を障害心筋に移植することで血管新生を促すだけでなく、直接血管を形成し虚血を軽減する可能性があることを示唆した。

上記結果を踏まえ、ヒト内皮細胞とヒト心臓内幹細胞を共培養した。その結果、定量的 RT-PCR では共培養後 3 日目に TBX5 が増加し心筋細胞マーカーである ACTC1 が一過性に増加した。一方 SMA は同時期ほとんど変化しなかった(下図)。



このことから、ヒト心臓内幹細胞は血管内皮細胞と共存することで一過性に心筋細胞になるが、心筋細胞の形質を維持できずに多くが減少している可能性を示す。

現在は上記の結果を合わせ、人心臓内幹細胞が心筋細胞に分化する転写因子の候補を knockdown したヒト心臓内幹細胞が心筋細胞により分化するかどうか、方法で述べたレポーターアッセイを使用し、同定中である。これによりヒト心臓内幹細胞が心筋細胞に分化する調節機構を解明中である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計 2 件)

Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, et al. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats.

Cardiovasc Diabetol. 査読有 2014; 13: 43 DOI: 10.1186/1475-2840-13-43

Kobayashi J, Yoshida M, et al. Directed Differentiation of Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells Identifies the Transcriptional Repression and Epigenetic Modification of NKX2-5, HAND1, and NOTCH1 in Hypoplastic Left Heart Syndrome. PLOS one 査読有 2014;9: E102796 doi:10.1371/journal.pone.0102796

#### [学会発表](計 1 件)

M Yoshida, S Tarui, J Kobayashi, M Tohru, K Nakamura, Y Maeshima, S Sano, H Ito, H Oh : T-box 5 controls age-dependent cardiogenic activity in human cardiac progenitor cells through insulin-like growth factor-1 receptor signaling 学会名: ESC2014 発表年月日:2014/8/30 発表場所:バルセロナ、スペイン

#### [図書](計 0 件)

#### [産業財産権] 出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

#### 取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 賢司 (YOSHIDA, Masashi)  
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：70532761

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：